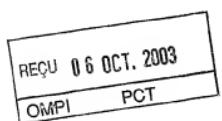


## BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 102 52 719.9

**Anmeldetag:** 13. November 2002

**Anmelder/Inhaber:** Morphochem AG Aktiengesellschaft für  
kombinatorische Chemie, München/DE

**Bezeichnung:** Verfahren zur Herstellung von 4-Amino-5-phenyl-  
2-methyl-pentansäure sowie ihrer Derivate

**IPC:** C 07 K 5/078

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 3. Juli 2003  
Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Faust

A 9161  
02/00  
EDV-L

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)



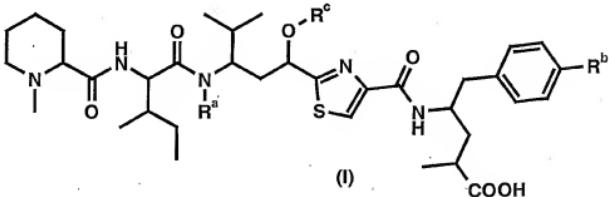
### Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zur  
5 Herstellung von 4-Amino-5-phenyl-2-methylpentansäure  
sowie Derivaten davon. Diese Verbindungen sind bei der  
Synthese von Tubulysinen und Tubulysinderivaten von  
grossem Interesse.

Verfahren zur Herstellung von 4-Amino-5-phenyl-2-methyl-pentansäure sowie ihrer Derivate

Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren  
 5 zur Herstellung von 4-Amino-5-phenyl-2-methyl-pentansäure sowie Derivaten davon über eine Multikomponentenreaktion. Diese Verbindungen sind bei der Synthese von Tubulysinen und Tubulysinderivaten von grossem Interesse.

- 10 Die Tubulysine wurden erstmals von der Gruppe von Höfle und Reichenbach (GBF Braunschweig) aus einer Kulturbrühe von Stämmen des Myxobakteriums *Archangium gephyra* isoliert (Sasse et al. J. Antibiot. 2000, 53, 879-885; WO9813375; DE10008089). Diese Verbindungen haben eine  
 15 ausgesprochen hohe cytotoxische Aktivität gegenüber Säugetier Zelllinien mit IC<sub>50</sub>-Werten im picomolaren Bereich und sind daher in der Krebsforschung von grossem Interesse. Tubulysine (I) sind Tetrapeptide, die drei ungewöhnliche Aminosäuren enthalten, was ihre Synthese zu  
 20 einer Herausforderung für die organische Synthesekemie macht.

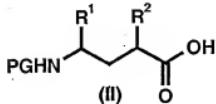


- 25 R<sup>a</sup> = H, CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH,  
 CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OC(O)CH=C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; R<sup>b</sup> = H,  
 OH; R<sup>c</sup> = H, Ac

- Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, neue Verfahren zur Herstellung von 4-Amino-5-phenyl-2-methyl-pentansäure sowie Derivaten davon bereitzustellen. Eine weitere
- 5 Aufgabe war es, ein Verfahren zur Synthese dieser Verbindungen bereitzustellen, welches in einer Multikomponentenreaktion abläuft. Da Multikomponentenreaktionen sehr variabel sind, eignen sie sich insbesondere für die Synthese von Substanzbibliotheken in
- 10 der pharmazeutischen Industrie (A. Dömling, I. Ugi, Angew. Chem. 2000, 112, 3300-3344).

Die vorliegende Erfindung beschreibt Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel (II):

15



worin:

20  $\text{R}^1$  ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist;

25  $\text{R}^2$  ein Wasserstoffatom, ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist und

PG eine Aminschutzgruppe ist.

Der Ausdruck Alkyl bezieht sich auf eine gesättigte, geradkettige oder verzweigte Kohlenwasserstoffgruppe, die 1 bis 20 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 1 bis 12 Kohlenstoffatome, besonders bevorzugt 1 bis 6 Kohlenstoffatome aufweist, z.B. die Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl-, Isobutyl-, tert-Butyl, n-Hexyl-, 2,2-Dimethylbutyl- oder n-Octyl-Gruppe.

Die Ausdrücke Alkenyl und Alkinyl beziehen sich auf 10 zumindest teilweise ungesättigte, geradkettige oder verzweigte Kohlenwasserstoffgruppen, die 2 bis 20 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 2 bis 12 Kohlenstoffatome, besonders bevorzugt 2 bis 6 Kohlenstoffatome aufweisen, z. B. die Ethenyl-, Allyl-, Acetylenyl-, Propargyl-, 15 Isoprenyl- oder Hex-2-enyl-Gruppe.

Der Ausdruck Heteroalkyl bezieht sich auf eine Alkyl-, eine Alkenyl- oder eine Alkinyl-Gruppe, in der ein oder mehrere (bevorzugt 1, 2 oder 3) Kohlenstoffatome durch 20 ein Sauerstoff-, Stickstoff-, Phosphor- oder Schwefelatom ersetzt sind (bevorzugt Sauerstoff oder Stickstoff), z.B. eine Alkyloxy-Gruppe wie z.B. Methoxy oder Ethoxy, oder eine Methoxymethyl-, Nitril-, Methylcarboxyalkylester-, Carboxyalkylester- oder 2,3-Dioxyethyl-Gruppe. Der 25 Ausdruck Heteroalkyl bezieht sich des weiteren auf eine Carbonsäure oder eine von einer Carbonsäure abgeleitete Gruppe wie z. B. Acyl, Acyloxy, Carboxyalkyl, Carboxyalkylester z.B. Methyl-carboxyalkylester, Carboxyalkylamid, Alkoxycarbonyl oder Alkoxycarbonyloxy.

30 Der Ausdruck Cycloalkyl bzw. Cyclo- bezieht sich auf eine gesättigte oder teilweise ungesättigte cyclische Gruppe, die einen oder mehrere Ringe aufweist, die ein Gerüst

bilden, welches 3 bis 14 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 3 bis 10 Kohlenstoffatome enthält, z.B. die Cyclopropyl-, Cyclohexyl-, Tetralin- oder Cylohex-2-enyl-Gruppe.

- 5 Der Ausdruck Heterocycloalkyl bzw. Heterocyclo- bezieht sich auf eine Cycloalkylgruppe wie oben definiert, in der ein oder mehrere (bevorzugt 1, 2 oder 3) Kohlenstoffatome durch ein Sauerstoff-, Stickstoff-, Phosphor- oder Schwefelatom ersetzt sind und kann beispielsweise für die  
10 Piperidin-, Morpholin-, N-Methylpiperazin- oder N-Phenyl-piperazin-Gruppe. stehen.

Die Ausdrücke Alkylcycloalkyl bzw. Heteroalkylcycloalkyl beziehen sich auf Gruppen, die entsprechend den obigen  
15 Definitionen sowohl Cycloalkyl- bzw. Heterocycloalkyl- wie auch Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl- und/oder Heteroalkylgruppen enthalten.

- Der Ausdruck Aryl bzw. Ar bezieht sich auf eine  
20 aromatische Gruppe, die einen oder mehrere Ringe hat, und durch ein Gerüst gebildet wird, das 5 oder 6 bis 14 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 5 oder 6 bis 10 Kohlenstoffatome enthält z.B. eine Phenyl-, Naphthyl-, Biphenyl-, 2-, 3- oder 4-Methoxyphenyl-, 2-, 3- oder 25 4-Ethoxyphenyl-, 4-Carboxyphenylalkyl- oder 4-Hydroxy-phenyl-Gruppe.

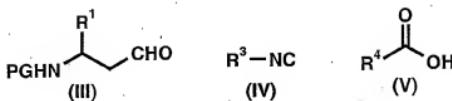
- Der Ausdruck Heteroaryl bezieht sich auf eine Aryl-Gruppe, in der ein oder mehrere (bevorzugt 1, 2 oder 3)  
30 Kohlenstoffatome durch ein Sauerstoff-, Stickstoff-, Phosphor- oder Schwefelatom ersetzt sind, z.B. die 4-Pyridyl-, 2-Imidazolyl-, 3-Pyrazolyl- und Iso-chinolinyl-Gruppe.

- 8
- Die Ausdrücke Aralkyl bzw. Heteroaralkyl beziehen sich auf Gruppen, die entsprechend den obigen Definitionen sowohl Aryl- bzw. Heteroaryl- wie auch Alkyl-, Alkenyl-, 5 Alkinyl- und/oder Heteroalkyl- und/oder Cycloalkyl- und/oder Heterocycloalkylgruppen enthalten, z.B. die Tetrahydroisochinolinyl-, Benzyl-, 2- oder 3-Ethyl-indolyl- oder 4-Methylpyridino-Gruppe.
- 10 Die Ausdrücke Alkyl, Alkenyl, Alkinyl, Heteroalkyl, Cycloalkyl, Heterocycloalkyl, Aryl, Heteroaryl, Aralkyl und Heteroaralkyl beziehen sich auch auf Gruppen, in denen ein oder mehrere Wasserstoffatome solcher Gruppen durch Fluor-, Chlor-, Brom- oder Jodatome oder OH, SH, NH<sub>2</sub> 15 oder NO<sub>2</sub>-Gruppen ersetzt sind. Diese Ausdrücke beziehen sich weiterhin auf Gruppen, die mit unsubstituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Cycloalkyl-, Heterocyclo-alkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkyl-Gruppen substituiert sind.
- 20 Schutzgruppen sind dem Fachmann bekannt und z. B. in P. J. Kocienski, Protecting Groups, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1994 sowie in T. W. Greene, P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1999 beschrieben. Gängige Aminschutzgruppen sind z. B. t-Butyloxycarbonyl- (Boc), 25 Benzyloxycarbonyl- (Cbz, Z), Benzyl- (Bn), Benzoyl- (Bz), Fluorenylmethyloxycarbonyl- (Fmoc), Allyloxycarbonyl - (Alloc), Trichlorethyloxycarbonyl- (Troc), Acetyl- oder 30 Trifluoracetylgruppen.

Verbindungen der Formel (I) können aufgrund ihrer Substitution ein oder mehrere Chiralitätszentren

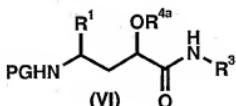
enthalten. Die vorliegende Erfindung umfasst daher sowohl alle reinen Enantiomere und alle reinen Diastereomere, als auch deren Gemische in jedem Mischungsverhältnis.

- 5 Zur Herstellung von Verbindungen der Formel (II) werden in einem ersten Schritt Verbindungen der Formeln (III), (IV) und (V),



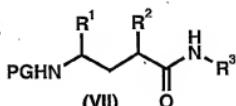
10

worin  $\text{R}^3$  ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist und  $\text{R}^4$  ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist, zu einer Verbindung der Formel (VI) umgesetzt, wobei  $\text{R}^{4a}$  gleich  $\text{COR}^4$  ist.



20

In einem zweiten Verfahrensschritt wird Verbindung (VI) zu einer Verbindung der Formel (VII) umgesetzt.



25

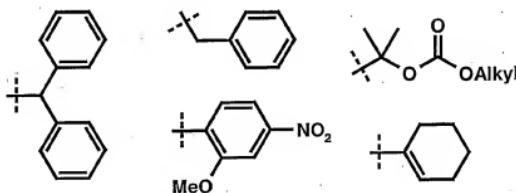
In einem dritten Verfahrensschritt wird Verbindung (VII) zu einer Verbindung der Formel (II) umgesetzt.

5 Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ist R<sup>1</sup> eine Aralkylgruppe oder eine Heteroaralkylgruppe (besonders bevorzugt eine Benzyl- oder eine p-Hydroxybenzylgruppe).

Des weiteren bevorzugt ist R<sup>2</sup> eine Alkylgruppe (besonders bevorzugt eine Methylgruppe).

Bevorzugt ist die Aminschutzgruppe PG eine t-Butyloxycarbonyl- (Boc), Benzyloxycarbonyl- (Cbz, Z), Benzyl- (Bn), Fluorenylmethyloxycarbonyl- (Fmoc), Allyloxy- carbonyl- (Alloc), Trichlorethyloxycarbonyl- (Troc) oder Trifluoracetylgruppe.

Weiter bevorzugt wird R<sup>3</sup> aus folgenden Gruppen ausgewählt:

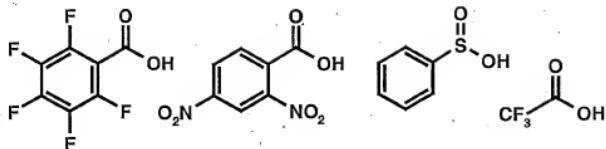


20

Wiederum bevorzugt ist Verbindung (IV) eine der in US6,147,240 (WO9905093, Ugi et al.) beschriebenen Isonitrile.

25

Wiederum bevorzugt wird Verbindung (V) aus folgenden Verbindungen ausgewählt:



- Gegebenenfalls kann es bevorzugt sein, dass im Zuge des zweiten Verfahrensschritts R<sup>4a</sup> abgespalten wird wobei eine 5 Verbindung der Formel (VI) mit R<sup>4a</sup> gleich Wasserstoff entsteht. Die Hydroxygruppe dieser Verbindung (PG-HN-CHR<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CO-NH-R<sup>3</sup>) wird in diesem Fall in eine 10 Abgangsgruppe X wie z. B. F, Cl, Br, I, OTos (Tosylat), OMs (Mesylat), OTf (Triflat), OPFP (Pentafluorphenyl) oder ODNP (Dinitrophenyl) überführt. Diese Verbindung (PG-HN-CHR<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>-CHX-CO-NH-R<sup>3</sup>) wird anschliessend mit einem Nucleophil R<sup>2-</sup> (z. B. MeLi) zu Verbindung VII umgesetzt.

Bevorzugt werden die Umsetzungen in einem aprotischen 15 Lösungsmittel wie z. B. Tetrahydrofuran (THF), Dioxan, Diethylether, Acetonitril oder Methylenechlorid durchgeführt, wobei Ether wie z. B. THF besonders bevorzugt sind.

20 Wiederum bevorzugt werden die Verbindungen (III), (IV) und (V) äquimolar eingesetzt.

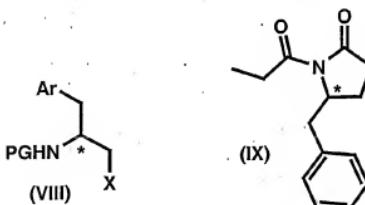
Des weiteren bevorzugt werden die einzelnen Verfahrensschritte unter einer Inertgasatmosphäre (z. B. 25 N<sub>2</sub>, Ar) durchgeführt.

Die bevorzugten Reaktionstemperaturen liegen im Bereich von -100°C bis 100°C, wobei Reaktionstemperaturen von -80°C bis 60°C besonders bevorzugt sind (besonders

bevorzugt sind Temperaturen von -80°C bis -70°C und von 0°C bis 25°C). Gegebenenfalls wird die Reaktion in einem Mikrowellenreaktor durchgeführt.

- 5 Gegebenenfalls kann beim ersten Verfahrensschritt die Zugabe einer Lewis-Säure wie z. B. Bortrifluoridetherat, Trimethyl-aluminium, Lithiumchlorid, Aluminiumtrichlorid, Zinkchlorid, Ytterbiumtriflat, Magnesiumtriflat, Magnesiumbromid, Zirkoniumchlorid, Titan(IV)chlorid oder  
 10 Zinntrachlorid bevorzugt sein.

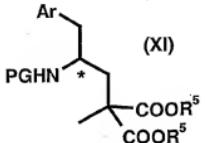
- Des weiteren können Verbindungen der Formel (II) mit R<sup>1</sup> gleich -CH<sub>2</sub>Ar und R<sup>2</sup> gleich Methyl, über eine Evans Alkylierung, durch Umsetzung von Verbindungen der Formeln  
 15 (VIII) und (IX) stereoselektiv hergestellt werden,



- wobei X eine Abgangsgruppe wie z. B. Cl, Br, I, OTos (Tosylat), OMs (Mesylat), OTf (Triflat) und Ar ein gegebenenfalls substituierter Aryl- oder Heteroarylrest  
 20 ist. Verbindungen der Formel (VIII) mit X = OH und (IX) sind kommerziell erhältlich (Aldrich); die Umwandlung der Hydroxygruppe in eine Abgangsgruppe ist dem Fachmann ebenso bekannt, wie die Abspaltung des chiralen Auxiliars im Anschluss an die Evans Reaktion.

- 25 Ein weiteres Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (II) mit R<sup>1</sup> gleich -CH<sub>2</sub>Ar und R<sup>2</sup> gleich Methyl

umfasst die Umsetzung von Verbindungen der Formel (VIII) mit einer Verbindung der Formel  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{COOR}^5)$  (X) zu einer Verbindung der Formel (XI),



- 5 wobei  $\text{R}^5$  ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-,  
 Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-,  
 Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder  
 ein Heteroaralkylrest ist. Nach Abspaltung der Gruppe  $\text{R}^5$   
 kann Verbindung (XI) zu Verbindung (II) mit  $\text{R}^1$  gleich  
 10  $-\text{CH}_2\text{Ar}$  und  $\text{R}^2$  gleich Methyl decarboxyliert werden.

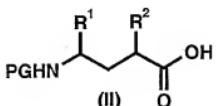
- Verbindungen der Formel (II) mit  $\text{R}^1$  ungleich  $-\text{CH}_2\text{Ar}$  und  $\text{R}^2$   
 ungleich Methyl lassen sich selbstverständlich analog zu  
 den hier beschriebenen Verfahren darstellen und sind von  
 15 der Vorliegenden Erfindung ebenfalls umfasst.

- Die hier beschriebenen erfindungsgemässen Verfahren  
 können selbstverständlich auch als Festphasensynthesen  
 durchgeführt werden, wobei ein Reaktionspartner über  
 20 einen Linker an einen Träger gebunden ist.

**Patentansprüche**

1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel (II):

5



worin:

10            R<sup>1</sup> ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist;

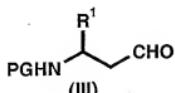
15            R<sup>2</sup> ein Wasserstoffatom, ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist und

20            PG eine Aminschutzgruppe ist,

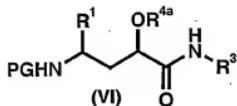
dadurch gekennzeichnet, dass

- a) Verbindungen der Formeln (III), (IV) und (V)

25

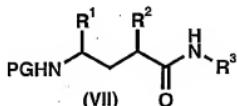


wobei R<sup>3</sup> ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist und R<sup>4</sup> ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest ist zu einer Verbindung der Formel (VI) umgesetzt werden, wobei R<sup>4</sup> gleich COR<sup>4</sup> ist;



- b) Verbindung (VI) zu einer Verbindung der Formel (VII) umgesetzt wird und

15



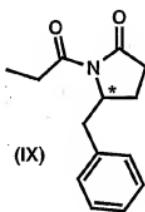
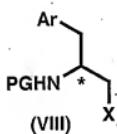
- c) Verbindung (VII) zu einer Verbindung der Formel (II) umgesetzt wird.

20

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei R<sup>1</sup> eine Aralkylgruppe oder eine Heteroaralkylgruppe ist.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei R<sup>2</sup> eine Alkylgruppe ist.

25

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei R<sup>1</sup> eine Benzyl- oder eine p-Hydroxybenzylgruppe ist.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei R<sup>2</sup> eine Methylgruppe ist.
6. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel (II) mit R<sup>1</sup> gleich -CH<sub>2</sub>Ar und R<sup>2</sup> gleich Methyl, dadurch gekennzeichnet, dass Verbindungen der Formeln (VIII) und (IX) miteinander Umgesetzt werden,



wobei X eine Abgangsgruppe wie z. B. Cl, Br, I, OTos (Tosylat), OMs (Mesylat), OTf (Triflat) und Ar ein gegebenenfalls substituierter Aryl- oder Heteroarylrest ist.